Author's Information

Varakin Aleksandr Tikhonovich, Professor of the Department «Private Animal Science» of Volgograd State Agrarian University (Russia, 400002, Volgograd, University Ave., 26); Doctor of Agricultural Sciences, Professor; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0375-7108>; E-mail: varakinat58@mail.ru

Epifanov Viktor Gennadivich, Professor of the Feeding Department of the K. A. Timiryazev Russian State Agrarian University (Russia, 127434, Moscow, Timiryazevskaya str., 49); Doctor of Biological Sciences, Professor; Tel. 8 903 173 07 09

Simonov Gennady Aleksandrovich, Chief Researcher of the department of feed and feeding of farm animals Vologda Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, North-Western Research Institute of Dairy and Pasture Animal Husbandry (Russia, 160555, Vologda, the village of Molochnoye, Lenin Street, 14); Doctor of Agricultural Sciences, E-mail: gennadiy000@mail.ru

Zoteev Vladimir Stepanovich, Professor of the Department of «Animal Science» of the Samara State Agrarian University (Russia, 446442, Samara region, Kinel, urban settlement Ust-Kinelsky, st. Uchebnaya, 2); Doctor of Biological Sciences, Professor, E-mail: Vladimir.zoteev@yandex.ru

Sanin Andrey Aleksandrovich, Researcher, Samara State Agrarian University (Russia, 446442, Samara region, Kinel, urban settlement Ust-Kinelsky, st. Uchebnaya, 2); Candidate of Agricultural Sciences; Tel. +79276031776

Информация об авторах

Варакин Александр Тихонович, профессор кафедры «Частная зоотехния» Волгоградского государственного аграрного университета (Россия, 400002, г. Волгоград, Университетский пр., д. 26); доктор сельскохозяйственных наук, профессор; ORCID: <https://orcid.org/00000003-0375-7108>; E-mail: varakinat58@mail.ru

Епифанов Виктор Геннадьевич, профессор кафедры кормления РГАУ-МСХ имени К.А. Тимирязева (Россия, 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49); доктор биологических наук, профессор; Тел. 8 903 173 07 09

Симонов Геннадий Александрович, главный научный сотрудник отдела кормов и кормления сельскохозяйственных животных Вологодского научного центра РАН, Северо-Западного научно-исследовательского института молочного и лугопастбищного хозяйства (Россия, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Ленина, 14); доктор сельскохозяйственных наук; E-mail: gennadiy000@mail.ru

Зотеев Владимир Степанович, профессор кафедры «Зоотехния» Самарского государственного аграрного университета (Россия, 446442, Самарская обл., г. Кинель, пгт. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2); доктор биологических наук, профессор, E-mail: Vladimir.zoteev@yandex.ru

Санин Андрей Александрович, научный сотрудник Самарского государственного аграрного университета (Россия, 446442, Самарская обл., г. Кинель, пгт. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2); кандидат сельскохозяйственных наук, Тел. 8 927 603 17 76

DOI: 10.32786/2071-9485-2021-04-17

MISSENSE MUTATIONS IN THE CODING REGION OF THE GH AND LEP GENES ASSOCIATED WITH SIGNS OF GROWTH IN SOVIET MERINO SHEEP

L. N. Skorykh¹, N. S. Safonova¹, D. A. Kovalev², N. I. Efimova¹

¹Federal State Budget Scientific Institution

«North Caucasian Federal Scientific Agrarian Center», Mikhailovsk

²Federal State Healthcare Institution «Stavropol Research Anti-Plague Institute», Stavropol

Received 10.09.2021

Submitted 15.11.2021

Summary

The paper presents the results of a study of the somatotropin (GH) and leptin (LEP) genes in Soviet merino sheep bred in the Stavropol Territory. Sequencing revealed missense mutations in the GH and LEP genes in the structure of the genome of sheep of the studied breed.

Abstract

Introduction. The preservation and rational use of the sheep gene pool is a very urgent problem of the development of sheep breeding in modern conditions. Mutton is an important food product all over the world, as it contains a valuable stearin complex, amino acids, saturated and unsaturated fatty acids,

enzymes, vitamins, macro- and microelements, which leads to a constant increase in the production of this type of meat in recent decades. This becomes possible with the help of marker-oriented selection tools. After all, hundreds of thousands of genetic markers have already been studied, distributed throughout the genome, which makes it possible to accurately identify the genotypes of animals bearing desirable phenotypic features, and on their basis to conduct breeding. **Object.** The object of the study is sheep of the Soviet Merino breed. **Materials and methods.** The research was carried out on the basis of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding - the branch of the Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Scientific Agrarian Center» in the laboratories of the Federal State Healthcare Institution «Stavropol Research Anti-Plague Institute». Sampling was carried out under aseptic conditions. Blood for DNA isolation was obtained from the jugular vein of sheep (n=30). Combinations of primer pairs leading to one specific amplification signal were selected for all the studied SNPs. Sequencing was performed in accordance with the manufacturer's protocol, using the BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit reagents. **Results and conclusion.** A single nucleotide polymorphism has been identified in the coding part of the GH gene (c.476G>A), which leads to the replacement of Arg → Gln. The study of the LEP gene revealed a single nucleotide polymorphism also in the coding part (c.541G>T), responsible for the replacement of Val → Leu. This polymorphism has previously been identified in several breeds of sheep (New Zealand Merino, sheep breeds Romney Marsh, Kupworth, Corridale, Poll Dorset, Suffolk). Based on a comparison based on the results of weighing, animals with the GHST genotype have 5.0 and 7.6% more birth weight than homozygous genotypes. Also, at birth, animals with the LEP^{GG} genotype had a greater mass compared to carriers of the LEP^{GG} genotype by 9.1%. The results of the associative analysis of GH and LEP genotypes and growth signs confirm our hypothesis about the presence of the genetic potential of Soviet Merino sheep to improve lamb production.

Key words: growth hormone, leptin, sequencing, SNP, Soviet Merino.

Citation. Skorykh L. N., Safonova N. S., Kovalev D. A., Efimova N. I. Missense mutations in the coding region of the GH and LEP genes associated with signs of growth in soviet merino sheep. Proc. of the Lower Volga Agro-University Comp. 2021. 4(64). 161-170 (in Russian). DOI: 10.32786/2071-9485-2021-04-17.

Author's contribution. The author of this study collected material, analyzed the data and wrote the paper.

Conflict of interest. The author declare no conflict of interest.

УДК 591.151:636.32/.38.082.13

МИССЕНС-МУТАЦИИ В КОДИРУЮЩЕЙ ОБЛАСТИ ГЕНОВ GH И LEP, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПРИЗНАКАМИ РОСТА У ОВЕЦ ПОРОДЫ СОВЕТСКИЙ МЕРИНОС

Л. Н. Скорых¹, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник

Н. С. Сафонова¹, младший научный сотрудник

Д. А. Ковалев², кандидат химических наук, заведующий лабораторией

Н. И. Ефимова¹, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

¹ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр, г. Михайловск

²ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь

Дата поступления в редакцию 10.09.2021

Дата принятия к печати 15.11.2021

Аннотация. В работе представлены результаты исследования генов соматотропина (GH) и лептина (LEP) у овец породы советский меринос, разводимых в Ставропольском крае. При секвенировании выявлены миссенс-мутации в генах GH и LEP в структуре генома овец изучаемой породы.

Актуальность. Сохранение и рациональное использование генофонда овец является весьма актуальной проблемой развития овцеводства в современных условиях. Баранина является важным продуктом питания во всем мире, так как содержит ценный стеариновый комплекс,

аминокислоты, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, ферменты, витамины, макро- и микроэлементы, что приводит к постоянному росту производства этого вида мяса в последние десятилетия. Это становится возможным при помощи инструментов маркер-ориентированной селекции. Уже изучены сотни тысяч генетических маркеров, распределенных по всему геному, что позволяет точно идентифицировать генотипы животных, несущих желательные фенотипические особенности, и на их основе вести селекцию. **Объект.** Объектом исследования являются овцы породы советский меринос. **Материалы и методы.** Исследования проводились на базе Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» в лабораториях ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт». Забор образцов проводился в асептических условиях. Кровь для выделения ДНК была получена из яремной вены овец (n=30). Для всех исследованных SNP были выбраны комбинации пар праймеров, приводящие к одному специфическому сигналу амплификации. Секвенирование проводили в соответствии с протоколом производителя, при помощи набора реагентов BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. **Результаты и обсуждение.** Выявлен однонуклеотидный полиморфизм в кодирующей части гена GH (с.476G>A), который приводит к замене Arg → Gln. При исследовании гена LEP обнаружен однонуклеотидный полиморфизм также в кодирующей части (с.541G>T), ответственный за замену Val → Leu. Этот полиморфизм ранее был идентифицирован у нескольких пород овец (новозеландских мериносов, овец пород ромни-марш, купворт, корридейл, полл дорсет, суффолк). Основываясь на результатах взвешивания, делаем вывод о том, что у животных с генотипом GH^{CT} на 5,0 и 7,6 % больше масса при рождении, чем у гомозиготных генотипов. Также при рождении животные с генотипом LEP^{GT} имели большую массу по сравнению с носителями генотипа LEP^{GG} на 9,1 %. Результаты ассоциативного анализа генотипов GH и LEP и признаков роста подтверждают нашу гипотезу о наличии генетического потенциала овец породы советский меринос для улучшения производства баранины.

Ключевые слова: миссенс-мутации, породы овец, секвенирование, SNP, советский меринос, мясная продуктивность овец.

Цитирование. Скорых Л. Н., Сафонова Н. С., Ковалев Д. А., Ефимова Н. И. Миссенс-мутации в кодирующей области генов GH и LEP, ассоциированные с признаками роста у овец породы советский меринос. Известия НВ АУК. 2021. 4(64). 161-170. DOI: 10.32786/2071-9485-2021-04-17.

Авторский вклад. Все авторы настоящего исследования принимали участие в планировании, выполнении или анализе данного исследования. Все авторы настоящей статьи одобрили представленный окончательный вариант.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Введение. В современных экономических условиях чрезвычайно высока значимость мясной продуктивности овец. Баранина является важным продуктом питания, обладающим высокой питательной ценностью и отличными от других видов мяса высокими вкусовыми качествами, а также содержит белки, жиры (со значительным количеством стеаринового комплекса), ферменты, витамины, макро- и микроэлементы, аминокислоты, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты [3, 4, 11].

В сельском хозяйстве хозяйственно полезные признаки, например, продуктивность, наследуются по сложному полигенному типу и находятся под контролем многих генов, расположенных в QTL-локусах, также они нередко располагаются на разных хромосомах [2, 5]. Несмотря на сообщения о высокой наследуемости признаков мясной продуктивности, изучение генетических маркеров и генов-кандидатов для улучшения мясной продуктивности поможет отобрать лучших животных в раннем возрасте с более широкими возможностями.

Повышение мясной продуктивности является приоритетным и основным направлением в селекции животноводческой отрасли. Важной частью национальных селекционных программ в большинстве стран с развитым животноводством являются

инструменты MAS (маркер-ассоциированная селекция) [8]. Соматотропин (GH) и лептин (LEP) являются ключевыми гормональными регуляторами энергетического обмена. Полиморфизм генов затрагивает все сферы продуктивности: репродуктивные качества, параметры мясной, шерстной, молочной продуктивности. Так, наиболее изученными являются группы животных крупного рогатого скота [10], коз [9] и овец [18].

По сравнению с фенотипическим отбором технологии селекции на основе генов имеют гораздо большую скорость генетического прироста или реакции. Это связано с тем, что информация о последовательности генов не зависит от окружающей среды [13].

Кроме того, такие технологии отбора значительно улучшат реакцию на отбор по признакам, которые остались позади или которые трудно улучшить с помощью традиционной технологии фенотипического отбора (признаки с низкой наследуемостью, признаки, которые сложно или дорого измерить, признаки, ограниченные полом) [19]. С другой стороны, конечно, были проведены многочисленные исследования связи мутаций с признаками мясной продуктивности у крупного рогатого скота [7, 15, 17], но намного меньше было исследовано по этим генам у овец. Соответственно необходимы исследования для выявления вариаций генов у овец и оценки их воздействия на продуктивность.

Следовательно, идентификация функциональных вариантов ДНК необходима для эффективных программ селекции. Это означает, что необходимо исследовать больше генов, расположенных в QTL [2, 5]. Целые гены, а не только части должны быть протестированы на целевых породах или видах, изучены генетические вариации и эпигенетических факторы, выгодные для производства.

Соматотропная ось, система контроля секреции гормона роста и его эндогенных факторов, участвующих в регуляции метаболизма и распределения энергии, имеет многообещающие возможности для получения экономически ценных качеств у сельскохозяйственных животных.

Особую роль в шерстном овцеводстве играет порода советский меринос, обладающая высокими продуктивными и наследственными качествами, а также оптимальным сочетанием высокой шерстной и мясной продуктивности [3].

Целью нашего исследования явилось изучение ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов генов соматотропина и лептина с признаками роста у овец породы советский меринос.

Объект исследования. Объектом исследования служили овцы породы советский меринос (Россия).

Материалы и методы. Экспериментальная часть исследований проводилась на базе Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» и в лабораториях ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт».

Забор образцов проводился в асептических условиях. Кровь для выделения ДНК была получена из яремной вены овец (n=30).

Генетический анализ проводился методом ПЦР и капиллярного секвенирования по Сэнгеру. Выделение ДНК осуществляли методом нуклеосорбции с использованием сертифицированного набора «ДНК сорб – В» (ИнтерЛабСервис, Россия).

Олигонуклеотидные праймеры для амплификации участков генов LEP, GH подбирались на основании результатов других исследований [12, 16]. Последовательность праймеров для амплификации участков генов GH: F: 5'-GAAACCTCCTTCCTCGCCC-3', R: 5'- CCAGGGTCTAGGAAGCCACA-3' и LEP: F: 5'- AGGAAGCACCTCTACGCTC -3', R: 5'- CTTCAAGGCTTCAGCACC -3'.

Секвенирование проводили при помощи генетического анализатора ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer с применением набора реагентов BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit в соответствии с инструкцией производителя.

Для картирования использовалась сборка генома Oar_v4.0. Аннотирование генов выполнялось с использованием геномных браузеров Ensemble (www.ensembl.org) и NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov).

В данном исследовании также был проведен генетический анализ (изучение частот генотипов, частоты аллелей и генного разнообразия).

Результаты и обсуждение. В процессе молекулярно-генетического анализа фрагмента гена гормона роста (GH) у овец породы советский меринос выявлена несинонимичная замена с.476G>A (g.47485936C>T; p.Agn159Gln), которая находится в кодирующей части экзона V (рисунок 1). В кодирующей области экзона III гена лептин (LEP) выявлена несинонимичная замена – с.541G>T (g.92503453G>T; p.Val181Leu) (рисунок 1). Гомозиготный генотип LEP^{TT} не был обнаружен у животных этой породы, что сопоставимо с другими исследованиями у овец эдильбаевской породы, где также отсутствовал этот генотип LEP^{TT} [6].

Рисунок 1 – 1) Фрагмент секвенограммы, включающий SNP (Y) в экзоне V гена GH gene у овец; 2) Фрагмент секвенограммы, включающий SNP (K) в экзоне III гена LEP у овец

Figure 1 - 1) A fragment of a sequenogram including SNP (Y) in exon V of the GH gene in sheep; 2) A fragment of a sequenogram including SNP (K) in exon III of the LEP gene in sheep

Следует отметить, что замена с.387G>T была обнаружена зарубежными исследователями у пород новозеландских мериносов, ромни-марш, купворт, корридейл, полл дорсет, суффолк, но данные о частоте встречаемости аллелей не приведены [20]. Также известно об обнаружении замены с.387G>T у овец индийской породы мальпура, но дальнейших ассоциаций с продуктивностью не установлено [12].

В исследовании идентифицировали по два отличительных паттерна: аллели G и T; C и T в генах GH и LEP соответственно, а распределение генотипов выражалось в следующем: три генотипа гена GH (CC, CT, TT с частотой встречаемости 0,533; 0,333; 0,134 соответственно) и два генотипа гена LEP (GG, GT с частотой встречаемости 0,733 и 0,267 соответственно).

Анализируя частоту встречаемости аллелей гена LEP, установили, что частота встречаемости референсного аллеля G в 2,7 раза выше частоты встречаемости мутантного аллеля T. В процессе анализа встречаемости аллелей гена GH выявлено, что встречаемость референсного аллеля C в 2,3 раза выше, чем аллеля T (таблица 1).

Степень гетерозиготности представляет собой средний процент гетерозиготных особей в популяции и характеризует уровень полиморфизма аллелей. Степень гетерозиготности генов GH и LEP у овец исследуемой породы составляет 0,427 и 0,244 соответственно (таблица 2). Так, высокая гетерозиготность гена GH свидетельствует о наибольшем генетическом разнообразии внутри популяции.

Таблица 1 – Частота аллелей и генотипов генов GH и LEP овец породы советский меринос (n = 30)

Table 1 – Frequency of alleles and genotypes of GH and LEP genes of Soviet Merino sheep (n = 30)

Показатель / Indicator	GH /C321T		LEP/G387T	
Частота генотипов / Frequency of genotypes	CC	0,533	GG	0,733
	CT	0,333	GT	0,267
	TT	0,134	TT	0
Частота аллелей / Fre- quency of alleles	C	0,70	G	0,86
	T	0,30	T	0,14
Степень гетерозигот- ности / Degree of heter- ozygosity	0,427		0,244	

У исследуемых животных генотипа GH^{CT} наблюдается более высокий темп роста в сравнении с генотипами GH^{CC} и GH^{TT}. Так, масса при рождении у овец с генотипом GH^{CT} была на 5,0 и 7,6 % ($p \leq 0,05$) больше, чем у гомозиготных особей GH^{CC} и GH^{TT} соответственно. К тому же овцы с генотипом GH^{CT} по показателям массы при отъеме были больше по сравнению с обеими группами гомозиготных носителей на 4,7 и 7,0 % соответственно (таблица 2).

Таблица 2 – Признаки роста овец породы советский меринос по генотипам генов GH и LEP

Table 2 – Signs of growth of Soviet Merino sheep by genotypes of GH and LEP genes

Ген / Gene	Генотип / Genotype	Признаки роста / Signs of growth		
		Масса при рожде- нии, кг / Weight at birth, kg	Среднесуточный при- рост, г / Average daily increase, g	Масса при отъеме, кг / Weight at wean- ing, kg
GH	CC	4,03±0,09	169,6±1,8	24,4±0,25
	CT	4,48±0,15*	175,75±2,04	25,6±0,31*
	TT	3,9±0,13	165,2±2,07*	23,8±0,24
LEP	GG	4,1±0,11	170,0±3,3	24,5±0,27
	GT	4,51±0,18	177,3±2,01	25,8±0,35*

Примечание – Достоверность различий с группой гомозигот обозначена: * – $p \leq 0,05$.

Note - The reliability of the differences with the homozygote group is indicated by: * - $p \leq 0.05$.

Овцы с генотипом LEP^{GT} отличаются более высокой массой при рождении на 9,1 % по сравнению с генотипом LEP^{GG}. В динамике находятся значения массы при отъеме: так, животные с генотипом LEP^{GT} лидируют по массе на 5,0 %.

Данные показатели подтверждают рост соответствующих значений среднесуточного прироста (таблица 3). Так, среднесуточный прирост у овец с генотипом GH^{CT} был на 3,5 и 6,0 % ($p \leq 0,05$) больше, чем у овец с гомозиготными генотипами GH^{CC} и GH^{TT} соответственно. При анализе данных среднесуточного прироста у животных с генотипом LEP^{GT} был больший показатель на 4,1 % по сравнению с LEP^{GG}.

Результаты этого исследования показали, что животные с полиморфизмом генов GH^{CT} и LEP^{GT} отличаются большими показателями массы тела при рождении и отъеме, а также среднесуточным приростом. Yu. A. Kolosov et al. (2017) [1] при исследовании полиморфных вариантов гена GH также наблюдали изменение массы тела у гетерозиготных овец сальской породы при рождении и в последующие возрастные периоды.

В результате нашего исследования было установлено, что присутствие несинонимичных замен g.47485936C>T и g.92503453G>T в генах GH и LEP оказало положительное влияние на параметры роста и развития анализируемой популяции овец.

Выводы. По результатам секвенирования в части ДНК идентифицировали мис-сенс-мутации, расположенные в кодирующих частях экзона III гена LEP и экзона V гена GH. Результаты ассоциативного анализа генотипов GH и LEP и признаков роста подтверждают нашу гипотезу о наличии генетического потенциала для улучшения производства баранины у овец породы советский меринос.

Четко наблюдались генетические вариации в продуктивности, что подчеркивает важность дальнейшего поиска маркеров для программ селекции в породе. На данный момент нет исследований, в которых изучалась бы связь между вариантами GH, LEP и мясными характеристиками овец породы советский меринос, что было обусловлено сравнением результатов текущих исследований.

Важно отметить, что существует предположение о возможном разделении генетических вариантов генов на «хороший» и «плохой» генотипы по признакам мясной продуктивности, что облегчит будущее разведение в направлении улучшения производства [14]. Это предложение может быть использовано в вариантах GH, LEP для достижения оптимального прогресса в производстве баранины от овец породы советский меринос. Поэтому овцы этой породы имеют большие возможности для генетического улучшения, если будет реализована программа отбора по этим генам-маркерам.

Библиографический список

1. Биотехнологические методы изучения полиморфизма гена гормона роста / Ю. А. Колосов [и др.] // Дальневосточный аграрный вестник. 2017. Т. 2. № 42. С. 82–86.
2. Леонова М. А., Гетманцева Л. В., Колосов А. Ю. Распределение частот аллелей и генотипов гена лейкемия ингибирующего фактора у свиней различных пород // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2. С. 534.
3. Мясная и шерстная продуктивность ярок породы советский меринос разных генотипов / Н. И. Ефимова [и др.] // Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции: материалы IX Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию факультета технологического менеджмента. 2014. С. 35-40.
4. Продуктивные и воспроизводительные особенности баранов и маток создаваемого скороспелого типа мясо-шерстных овец / А. А. Омаров [и др.] // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2016. Т. 1. № 9. С. 140-144.
5. Рукин И. В., Пантюх Е. С., Груздев Д. С. Геномная селекция - будущее в разведении животных // Зоотехния. 2013. № 7. С. 8-9.
6. Сенина Р. Ю., Калашникова Л. А., Лушников В. П. Полиморфизм *lep387* в популяции овец эдильбаевской породы // Современное состояние, традиции и инновационные технологии в развитии АПК: материалы международной научно-практической конференции. Башкирский государственный аграрный университет; ООО «Башкирская выставочная компания», 2020. С. 160-163.
7. Akers R. M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows // J. Dairy Sci. 2006. V. 89. P. 1222-1234.
8. Evaluating the effects of a single copy of a mutation in the myostatin gene (c.*1232G>A) on carcass traits in crossbred lambs / A. Y. Masri [et al.] // Meat Sci. 2011. V. 87(4). P. 412-418.
9. Genetic polymorphism of the leptin and receptor growth hormone in goats / N. M. V. Silva [et al.] // Archivos de Zootecnia. 2012. V. 61 (234). P. 187-195.
10. Identification of g.170G>A and g.332G>A mutations in exon 3 of leptin gene (*Bcln* and *Cail*) and their association with semen quality and testicular dimensions in Sanjabi rams / N. Hernandez [et al.] // Anim. Reprod. Sci. 2017. V. 179. P. 49–56.
11. Meat quality of designated South African indigenous goat and sheep breeds / P. A. Tshabalala [et al.] // Meat Science. 2003. V. 65. № 1. P. 563-570.
12. Meena A. S., Artabandhu Sahoo, Randhir Bhatt Polymorphism of the exon 3 of leptin gene in Malpura sheep // Article in Indian Journal of Animal Research. 2016.

13. Naqvi A. N. Application of molecular genetic technologies in livestock production: potentials for developing countries // *Advances in Biological Research*. 2007. V. 1. № 3-4. P. 72-84.
14. Novel genetic variation associated to CSN3 strongly affects rennet-induced milk coagulation / N. A. Poulsen [et al.] // *Int Dairy*. 2017. V. 71. P. 122-30.
15. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks / G. H. Hua [et al.] // *Meat Sci*. 2009. V. 81. P. 391-395.
16. Polymorphism of growth hormone gene and its association with wool traits in Egyptian sheep breeds. / M. Farag Ibrahim [et al.] // *African Journal of Biotechnology*. 2016. Vol. 15 (14). P. 549-556.
17. Sejrsen K., Purup M. Vestergaard M. and J. Foldager. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: Physiological basis and implications for milk yield potential // *Domestic Anim. Endocrinol*. 2000. V. 19. P. 93-104.
18. Sequencing and Polymorphism detection in growth hormone gene in Najdi Sheep and their association with milk production / M. Aqlan Faisal [et al.] // *Indian Journal Of Animal Research*. 2019. Vol. 53. Issue 4. B-920.
19. Van Eenennaam A. L. DNA-based biotechnologies // *Beef Sire Selection Manual*. The National Beef Cattle Evaluation Consortium. 2006. P. 66-73.
20. Zhou H., Hickford J. G. H., Gong H. Identification of Allelic Polymorphism in the Ovine Leptin Gene // *Molecular Biotechnology*. 2009. V. 41. P. 22-25.

Conclusions. Based on the results of sequencing in the DNA part, missense mutations located in the coding parts of exon III of the LEP gene and exon V of the GH gene were identified. The results of the associative analysis of GH and LEP genotypes and growth signs confirm our hypothesis that there is a genetic potential for improving mutton production in Soviet Merino sheep.

Genetic variations in productivity were clearly observed, which underlines the importance of further search for markers for breeding programs in the breed. At the moment, there are no studies that study the relationship between GH, LEP variants and meat characteristics in Soviet Merino sheep, which was due to a comparison of the results of current studies.

It is important to note that there is an assumption about the possible separation of genetic variants of genes into "good" and "bad" genotypes based on meat productivity, which will facilitate future breeding in the direction of improving production [20]. This offer can be used in GH, LEP variants to achieve optimal progress in the production of mutton from Soviet Merino sheep. Therefore, sheep of this breed have great opportunities for genetic improvement if a selection program for these marker genes is implemented.

References

1. Biotechnological methods for studying polymorphism of the growth hormone gene / Yu. A. Kolosov [et al.] // *Far Eastern Agrarian Bulletin*. 2017. Vol. 2. No. 42. P. 82-86.
2. Leonova M. A., Getmantseva L. V., Kolosov A. Yu. Frequency distribution of alleles and genotypes of the leukemia inhibitory factor gene in pigs of various breeds // *Modern problems of science and education*. 2015. No. 2. P. 534.
3. Meat and wool productivity of the bright breed Soviet merino of different genotypes / N. I. Efimova [et al.] // *The materials of the IX International Scientific and Practical Conference dedicated to the 85th anniversary of the Faculty of Technological Management Innovations and modern technologies in the production and processing of agricultural products*. 2014. P. 35-40.
4. Productive and reproductive features of rams and queens of the created precocious type of meat-wool sheep / A. A. Omarov [et al.] // *Collection of scientific papers of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat breeding*. 2016. Vol. 1. No. 9. P. 140-144.
5. Rukin I. V., Pantyukh E. S., Gruzdev D. S. Genomic selection - the future in animal breeding // *Zootechnia*. 2013. No. 7. P. 8-9.

6. Senina R. Yu., Kalashnikova L. A., Lushnikov V. P. lep387 polymorphism in the population of sheep of the Edilbaev breed // The current state, traditions and innovative technologies in the development of agriculture: materials of the international scientific and practical conference. Bashkir State Agrarian University; Bashkir Exhibition Company LLC, 2020. P. 160-163.
7. Akers R. M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows // J. Dairy Sci. 2006. V. 89. P. 1222-1234.
8. Evaluating the effects of a single copy of a mutation in the myostatin gene (c.*1232G>A) on carcass traits in crossbred lambs / A. Y. Masri [et al.] // Meat Sci. 2011. V. 87(4). P. 412-418.
9. Genetic polymorphism of the leptin and receptor growth hormone in goats / N. M. V. Silva [et al.] // Archivos de Zootecnia. 2012. V. 61 (234). P. 187-195.
10. Identification of g.170G>A and g.332G>A mutations in exon 3 of leptin gene (Bcni and Cail) and their association with semen quality and testicular dimensions in Sanjabi rams / N. Hernandez [et al.] // Anim. Reprod. Sci. 2017. V. 179. P. 49-56.
11. Meat quality of designated South African indigenous goat and sheep breeds / P. A. Tshabalala [et al.] // Meat Science. 2003. V. 65. № 1. P. 563-570.
12. Meena A. S., Artabandhu Sahoo, Randhir Bhatt Polymorphism of the exon 3 of leptin gene in Malpura sheep // Article in Indian Journal of Animal Research. 2016.
13. Naqvi A. N. Application of molecular genetic technologies in livestock production: potentials for developing countries // Advances in Biological Research. 2007. V. 1. № 3-4. P. 72-84.
14. Novel genetic variation associated to CSN3 strongly affects rennet-induced milk coagulation / N. A. Poulsen [et al.] // Int Dairy. 2017. V. 71. P. 122-30.
15. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks / G. H. Hua [et al.] // Meat Sci. 2009. V. 81. P. 391-395.
16. Polymorphism of growth hormone gene and its association with wool traits in Egyptian sheep breeds. / M. Farag Ibrahim [et al.] // African Journal of Biotechnology. 2016. Vol. 15 (14). P. 549-556.
17. Sejrsen K., Purup M. Vestergaardm and J. Foldager. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: Physiological basis and implications for milk yield potential // Domestic Anim. Endocrinol. 2000. V. 19. P. 93-104.
18. Sequencing and Polymorphism detection in growth hormone gene in Najdi Sheep and their association with milk production / M. Aqlan Faisal [et al.] // Indian Journal Of Animal Research. 2019. Vol. 53. Issue 4. B-920.
19. Van Eenennaam A. L. DNA-based biotechnologies // Beef Sire Selection Manual. The National Beef Cattle Evaluation Consortium. 2006. P. 66-73.
20. Zhou H., Hickford J. G. H., Gong H. Identification of Allelic Polymorphism in the Ovine Leptin Gene // Molecular Biotechnology. 2009. V. 41. P. 22-25.

Authors Information

Skorykh Larisa Nikolaevna, Chief Researcher of the Department of Sheep and Goat Breeding of the North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center (Russia, Stavropol, 34 Chkalov lane, sq.48), Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, tel. 8(8652)26-03-12, e-mail: smu.sniizhk@yandex.ru

Safonova Nadezhda Sergeevna, Junior Researcher at the Laboratory of Immunogenetics and DNA Technologies of the North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center (Russia, 355013, Stavropol, Tavrichesky Passage 3A), tel. 89187507221, e-mail: nadejda2383@yandex.ru

Kovalev Dmitry Anatolyevich, Head of the Biochemistry Laboratory of the Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor (Russia, 355017, Stavropol, Mira str., 280, bldg. 2, sq. 47) Candidate of Chemical Sciences, tel. 8(865-2) 26-03-12, e-mail: kovalev_da.stv@list.ru

Efimova Nina Ivanovna, Leading Researcher of the Department of Sheep and Goat Breeding of the North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center (Russia, Stavropol, Pushkin str. 30, sq.11) Candidate of Agricultural Sciences, tel. 8 (8652) 71-95-58, e-mail: smu.sniizhk@yandex.ru

Информация об авторах

Скорых Лариса Николаевна, главный научный сотрудник отдела овцеводства и козоводства ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (РФ, г. Ставрополь, пер. Чкалова 34, кв.48), доктор биологических наук, доцент, тел. 8(8652)26-03-12, e-mail: smu.sniizhk@yandex.ru

Сафонова Надежда Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (РФ, 355013, г. Ставрополь, проезд Таврический 3А), тел. 89187507221, e-mail: nadejda2383@yandex.ru

Ковалев Дмитрий Анатольевич, заведующий лабораторией биохимии ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (РФ, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 280, корп. 2, кв. 47) кандидат химических наук, тел. 8(865-2) 26-03-12, e-mail: kovalev_da.stv@list.ru

Ефимова Нина Ивановна, ведущий научный сотрудник отдела овцеводства и козоводства ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (РФ, г. Ставрополь, ул. Пушкина 30, кв. 11) кандидат сельскохозяйственных наук, тел. 8 (8652) 71-95-58, e-mail: smu.sniizhk@yandex.ru

DOI: 10.32786/2071-9485-2021-04-18

HEMATOLOGICAL PARAMETERS AND RESISTANCE OF THE ORGANISM OF PIGGIES WHEN ADDING AMINO ACIDS AND ENZYMES TO THEIR DIET

O. V. Budtuev, O. D. Budtueva

Volgograd State Agrarian University

Received 01.03.2021

Submitted 24.11.2021

Summary

The article deals with the comparative morphological composition of blood, the effect of feeding animals on the composition of the blood, namely the use of threonine and enzyme preparations in the diet of the fattening pigs. This experiment was carried out on four groups of pigs - control, experimental I, experimental II and experimental III. The diet of the experimental groups was enriched with threonine and enzyme preparations. Comparative analysis of the content of erythrocytes, leukocytes and the hemoglobin in the blood made it possible to establish that the content of erythrocytes in the experimental groups varied in the range of $6.21-6.29 \times 10^{12} / l$. It was noted that the control group was inferior to I, II and III in the experimental group.

Abstract

Introduction. Due to the fact that feed makes up a large part of the total cost of pig production, one of the main ways to solve the problems of the state of production efficiency in the industry is to reduce the cost of feed. The purpose of this study was to collect and analyze data on the use of the amino acid threonine, celloviridin-B G20x and amylosubtilin G3x in fattening young pigs and study their effect on hematological parameters. The main component of pig feed is cereal grain, but it contains an insufficient amount of essential amino acids, in particular threonine. Pigs are monogastric animals, in their digestive tract there are no enzymes that break down complex polysaccharides of plant feed, this, as well as early weaning of animals, encourages the use of enzyme preparations. For this reason, the interest in studying the effect of threonine and enzyme preparations on the physiological parameters of young pigs is currently of interest. **Object.** The object of this research was young pigs. **Materials and methods.** Scientific research was carried out at the enterprise, which is the largest pork producer in the Southern Federal District - Joint Stock Company - Cossack Holding Company «Krasnodonskoe», which is located in the Ilovinsky district of the Volgograd region. aged 112 days, which were divided into 4 groups by the method of analogs pairs (control, I, II, III - experimental), 25 animals each. **Results and conclusions.** Comparative analysis of the content of erythrocytes, leukocytes and hemoglobin in the blood made it possible to establish that the content of erythrocytes in the experimental groups varied in the range of $6.21-6.29 \times 10^{12} / l$. It was noted that the control group was inferior to the experimental ones in this indicator. An analysis of the hemoglobin content in the blood of young pigs was also carried out and in the II experimental group was $118.07 \text{ g} / l$, which exceeded the control by 5.67 ($P < 0.01$), this analysis made it possible to determine the level of redox processes in the body and analysis of the level of total protein, albumin and globulins in the blood serum of the studied animals, the concentration of total protein in the control group is $79.53 \text{ g} / l$, which is 4.24% less than the experimental ones ($P < 0.01$), 4.61% ($P < 0.01$) and 4.04% ($P < 0.05$). The content of albumin in the control group was $34.10 \text{ g} / l$, which is lower than the experimental ones by 4.78%, 7.04% ($P < 0.05$) and 5.78% ($P < 0.05$), the level of globulins in the control group was $45.43 \text{ g} / l$, which is lower than